

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II"

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA



DOTTORATO DI RICERCA IN FISIOPATOLOGIA CLINICA E MEDICINA SPERIMENTALE

XXVII CICLO

Coordinatore: Prof. Gianni Marone

Tesi di Dottorato

Influenza della neuroinfiammazione sul volume dell'ippocampo e sul metabolismo cerebrale di glucosio in pazienti con malattia di Alzheimer ed in pazienti con Parkinson-demenza

Tutor:

CH.MO PROF. DARIO LEOSCO

Candidata:

DOTT.SSA GRAZIA DANIELA FEMMINELLA

Anno Accademico 2014-2015

INDICE

INTRODUZIONE	2
MATERIALI E METODI	6
Popolazione in studio	6
MRI e PET	7
Valutazione del volume ippocampale	7
Statistical Parametric Mapping (SPM)	8
Analisi statistica	8
RISULTATI	
Caratteristiche demografiche dei pazienti	9
Volume dell'ippocampo, [11C](R)PK11195 BP e rCMRGlc nei soggetti con MA e PD	9
Correlazione con analisi ROI tra [11C](R)PK11195 BP, rCMRGlc e volume dell'ippocampo	10
Correlazione in SPM tra [11C](R)PK11195 BP, rCMRGlc e volume dell'ippocampo	10
Correlazione tra stato cognitivo, [11C](R)PK11195 BP, rCMRGlc e volume dell'ippocampo	11
DISCUSSIONE	12
BIBLIOGRAFIA	17
TABELLE	20
FIGURE	33

INTRODUZIONE

La malattia di Alzheimer (MA) è la causa più comune di demenza età correlata e colpisce circa il 4.4% della popolazione anziana mondiale. E' una patologia neurodegenerativa progressiva, caratterizzata da una riduzione delle funzioni cognitive con prevalente interessamento della memoria a breve termine. Dal punto di vista neuropatologico la MA è caratterizzata da due principali alterazioni proteiche a livello cerebrale: l'accumulo di oligomeri di beta-amiloide a livello extracellulare e la formazione di aggregati neurofibrillari della proteina tau a livello intracellulare, entrambe causa di danno neuronale. Accanto a queste due maggiori alterazioni, si riscontrano nella MA diverse altre anomalie cellulari e molecolari, che interessano l'infiammazione, lo stress ossidativo, la gliosi reattiva, alterazioni della permeabilità della barriera emato-encefalica, che possono contribuire ed accelerare il processo neurodegenerativo e la disfunzione sinaptica alla base di tale patologia (1).

La malattia di Parkinson (MP) rappresenta la seconda patologia neurodegenerativa più diffusa dopo la MA ed il più frequente disordine del movimento. E' caratterizzata dalla perdita di neuroni a livello della substantia nigra mesencefalica e dalla presenza di inclusioni intraneuronali della proteina sinaptica alfa-sinucleina, note come corpi di Lewy. Oltre ai caratteristici sintomi motori (bradicinesia, rigidità, tremore), è di frequente riscontro nella MP la presenza di deterioramento cognitivo che ha una prevalenza di circa il 30% nei pazienti affetti; si stima infatti che in pazienti con MP il rischio di sviluppare una forma di demenza (nota come Parkinson-demenza, PD) negli stadi più avanzati della malattia è di sei volte maggiore che nella popolazione generale (2).

Nonostante i progressi in campo diagnostico per entrambe le patologie, la diagnosi di certezza è tuttora affidata al riscontro autoptico delle anomalie proteiche citate e le opzioni terapeutiche disponibili sia per la MA che per la MP si basano su farmaci sintomatici che non hanno un impatto sulla storia naturale di entrambe le patologie. Per tali motivi, negli ultimi decenni si sono esplorate diverse ipotesi etiopatogenetiche in grado di spiegare i molteplici aspetti di tali patologie, tra le quali lo studio della neuroinfiammazione sembra avere un ruolo preminente.

Con il termine "neuroinfiammazione" ci si riferisce alla risposta infiammatoria del sistema nervoso centrale (SNC) ad un insulto neuronale, mediata dagli astrociti e dalle cellule della

microglia, i principali mediatori cellulari della risposta infiammatoria del SNC. Le cellule della microglia costituiscono la popolazione di macrofagi residenti del SNC, dove rappresentano circa il 10% della popolazione cellulare totale; oltre a svolgere un ruolo fondamentale nella neurogenesi, nella plasticità e nella rigenerazione neuronale, la microglia è anche la prima linea difensiva contro ogni genere di danno cerebrale, avendo la capacità di fagocitare le tossine, rilasciare fattori citotossici e svolgere la funzione di cellule presentanti l'antigene. In assenza di stimoli esterni, la microglia si trova in uno stato "inattivo" in cui, grazie alla sua morfologia cellulare ramificata, attua un monitoraggio costante del microambiente neuronale senza interferire con l'attività dei neuroni circostanti. Tuttavia, una volta attivata, la microglia va incontro ad una modificazione morfologica che la porta ad assumere una forma ameboide mobile in modo da poter raggiungere il luogo dell'insulto. Le cellule microgliali possono restare per lungo tempo in forma attiva, rilasciando citochine e fattori neurotossici che possono a loro volta contribuire ad aumentare il danno neuronale. Il pattern di attivazione di tali cellule ne ha permesso la classificazione in due fenotipi: il fenotipo M1, o da attivazione classica, ed il fenotipo M2, o da attivazione alternativa. Il fenotipo M1 risponde alla stimolazione con lipopolisaccaride e produce una massiva risposta infiammatoria con il rilascio di interleuchina (IL)-1b, IL-12, tumor necrosis factor alpha (TNFalpha), mentre il fenotipo M2 in genere presenta un profilo anti-infiammatorio; il passaggio da un fenotipo all'altro è un processo dinamico in cui l'infiammazione periferica gioca un ruolo determinante. Gli astrociti sono la parte rimanente delle cellule della glia e sono in grado di rilasciare molecole pro-infiammatorie in risposta ad uno stimolo. Numerose evidenze indicano che le patologie neurodegenerative si accompagnano a neuronfiammazione cronica, che a sua volta contribuisce alla progressione del danno neuronale (3).

Studi effettuati post-mortem in pazienti con MA hanno dimostrato la presenza di colocalizzazione di microglia reattiva con le placche extracellulari di beta-amiloide, mentre nella MP un significativo aumento delle cellule microgliali è stato riscontrato a livello della substantia nigra. E' inoltre noto che sia le gli oligomeri di beta-amiloide che l'alfa-sinucleina sono in grado di attivare la microglia in vitro ed indurre pertanto una risposta infiammatoria con rilascio di citochine neurotossiche (3).

Grazie al continuo sviluppo delle tecniche di neuroimaging, è attualmente possibile visualizzare in vivo la presenza di un processo neuroinfiammatorio a livello del SNC, soprattutto grazie all'impiego della tomografia ad emissione di positroni (PET). Il recettore periferico delle benzodiazepine (PBR), noto anche come TSPO (translocator protein di

18kDa), è una proteina della membrana mitocondriale esterna espressa a bassi livelli in siti specifici del SNC (plessi corioidei, bulbi olfattori, cellule endoteliali) in condizioni fisiologiche. La trasformazione della microglia dalla forma inattiva a quella attivata è associata con l'aumento dell'espressione del TSPO, in grado di legare il [11C](R)PK11195 [1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinoline carboxamide], un tracciante radioattivo sviluppato per la valutazione della attivazione microgliale in vivo mediante PET (4).

Numerosi studi clinici hanno dimostrato che l'uptake di [11C](R)PK11195 è significativamente aumentato nelle patologie degenerative, quali la MA, la MP, la sclerosi multipla, la malattia di Huntington, la AIDS-demenza e lo stroke ischemico. E' stato dimostrato che il cosiddetto binding potential (BP) del [11C](R)PK11195 è aumentato nella corteccia frontale, temporoparietale ed occipitale in pazienti con MA rispetto ai controlli, indicando che la attivazione della microglia è un evento precoce nella patogenesi della malattia. Studi più recenti hanno confermato un aumento del BP di [11C](R)PK11195 nella MA a livello corticale cerebrale ed una associazione con la deposizione di amiloide, con una correlazione negativa con la funzione cognitiva valutata mediante il punteggio del Mini Mental State Examination (MMSE) (5). Ulteriori dati più recenti ottenuti con l'impiego dei cosiddetti traccianti microgliali di seconda generazione, tra cui il [11C]PBR28, hanno confermato tali ipotesi, evidenziando inoltre una correlazione inversa tra la captazione di [11C]PBR28 ed il volume della sostanza grigia cerebrale. Attualmente, studi di più ampie dimensioni stanno valutando la neuroinfiammazione nei soggetti con mild cognitive impairment (MCI), la fase preclinica della demenza. Nei pazienti con MP, il BP di [11C](R)PK11195 è significativamente aumentato a livello corticale e sottocorticale rispetto ai controlli, anche in fase precoce. Anche i pazienti con PD dimostrano un diffuso incremento della attivazione microgliale e del BP di [11C](R)PK11195, che correla negativamente col punteggio del MMSE (6). Dati recenti hanno inoltre dimostrato che esiste una correlazione negativa tra l'attivazione microgliale e il metabolismo cerebrale di glucosio sia in pazienti con MA che in pazienti con PD, suggerendo che la neuro infiammazione possa indurre disfunzione neuronale nelle patologie degenerative (7).

La formazione dell'ippocampo, situata nel lobo temporale mediale, è essenziale per la formazione della memoria e l'atrofia dell'ippocampo è una caratteristica peculiare della MA; infatti, una accelerata atrofia dell'ippocampo si associa a progressione della MA (8). La presenza della stessa in pazienti con PD è variabile: vi sono evidenze che riportano atrofia

dell'ippocampo nella MP anche in fase precoce (9-12) ed altri autori che riportano dati opposti (13).

A causa della crescente evidenza di una possibile correlazione tra attivazione gliale, neurodegenerazione e demenza, l'ipotesi di tale studio è che l'attivazione microgliale sia associata alla riduzione del volume dell'ippocampo in pazienti affetti da patologie neurodegenerative croniche quali MA e PD.

Lo scopo di tale lavoro di tesi è stato quello di valutare se l'aumento dell'attivazione gliale a livello dell'ippocampo, del lobo temporale mediale o dell'intera corteccia cerebrale, aree dove i neuroni ippocampali proiettano in maniera diretta o indiretta, possa correlare con la riduzione del volume dell'ippocampo, supportando le evidenze che indicano nella neuroinfiammazione un mediatore cruciale dei processi neurodegenerativi. Abbiamo inoltre ipotizzato che, oltre alla attivazione della microglia, la riduzione del tasso metabolico di glucosio cerebrale (rCMRGlc) a livello dell'ippocampo e del lobo temporale mediale possa essere associato alla riduzione del volume dell'ippocampo. In tale studio, abbiamo verificato tali ipotesi usando un marcatore PET per la glia, il [11C]PK11195, abbiamo quantificato il rCMRGlc mediante [18F]FDG PET con input arterioso e misurando il volume dell'ippocampo alla risonanza magnetica cerebrale in pazienti con MA, PD e controlli sani della stessa età.

MATERIALI E METODI

Popolazione in studio

25 partecipanti (9 con PD, 8 con MA e 8 controlli sani) sono stati arruolati presso le strutture dell'Imperial College Hospital e degli altri ospedali di Londra ad esso associati. Per tutti i pazienti in studio è stata effettuata una dettagliata valutazione clinica e neurologica, comprendente: la storia clinica pregressa, esami ematochimici, test neuropsicometrici, valutazione della memoria verbale e visiva, grado di attenzione, funzioni esecutive, abilità prassiche, linguaggio.

La diagnosi di probabile MA è stata effettuata clinicamente, in base ai criteri NINDS-ADRDA (14), mentre la diagnosi di PD si è basata sull'algoritmo diagnostico per la PD, includendo i pazienti con diagnosi di MP effettuata almeno un anno prima la comparsa di demenza (15).

Gli altri criteri di inclusione comprendono: 1) età compresa tra 50 e 79 anni; 2) preservate capacità visive ed uditive, tali da consentire il completamento della valutazione neuropsicometrica; 3) la presenza di un care-giver in grado di fornire informazioni sulla storia clinica del paziente; 4) il completamento della valutazione neuropsicometrica; 5) capacità di dare il consenso informato. I criteri di esclusione comprendono: 1) la presenza di significativa cerebrovasculopatia all'imaging a risonanza magnetica (Magnetic Resonance Imaging, MRI); 2) depressione; 3) ogni patologia concomitante in fase acuta o di severità tale da non consentire o influenzare la valutazione neuropsicometrica; 4) controindicazioni alla MRI; 5) storia di schizofrenia, disordine bipolare o storia di terapia elettroconvulsivante; 6) storia di neoplasia negli ultimi 5 anni, ad eccezione dei tumori della cute. La popolazione di controllo è stata reclutata mediante annunci locali o tra i partner dei pazienti. Ai controlli sono stati applicati gli stessi criteri di esclusione contemplati per i pazienti con MA e PD. La presenza di demenza nei controlli sani è stata esclusa grazie alle valutazioni clinica e neuropsicometrica, mentre un significativo grado di atrofia cerebrale è stato escluso grazie alla esecuzione della MRI con sequenze T1-pesate e la presenza di danno strutturale cerebrale grazie alla esecuzione di sequenze MRI T2-pesate.

Una volta ottenuta l'approvazione del comitato etico dell'Hammersmith Hospitals Trust, i pazienti sono stati sottoposti a PET con [11C] PK11195 e [18F] FDG (fluoro-deossi glucosio) e sottoposti a MRI volumetrica. L'autorizzazione alla somministrazione di traccianti radioattivi è stata rilasciata dall'ente predisposto (ARSAC - Administration of Radioactive Substances Advisory Committee).

MRI e PET

La MRI è stata realizzata con uno scanner 1.5 tesla GE. Le scansioni MRI volumetriche T1-pesate (3D T1 volume, pulse sequence RF-Fast, tempi di acquisizione TR 30 ms, TE 3ms, flip angle 30°, FOV 25 cm, matrice 156×256 , dimensioni del voxel $0.98 \times 0.98 \times 1.6$ mm) sono state acquisite per la co-registrazione con le scansioni PET e per la valutazione dell'atrofia, mentre le immagini T2-pesate sono state acquisite per escludere anomalie strutturali nei pazienti con MA, PD o nei soggetti di controllo.

Tutti i soggetti sono stati sottoposti a PET tridimensionale con il tracciante [11C](R)PK11195 grazie ad uno scanner ECAT EXACT HR++ (CTI/Siemens 966); ai soggetti è stata iniettata una dose media di $296(\pm 18)$ MBq e i dati di emissione 3D sono stati acquisiti in "listmode" per 60 minuti. Immagini parametriche del legame del tracciante [11C](R)PK11195 (binding potential, BP) come stima del B_{max}/K_d , sono state generate utilizzando il modello compartimentale semplificato del tessuto (SRTM), utilizzando uno specifico algoritmo (16).

Tutti i soggetti sono stati sottoposti a PET con FDG, utilizzando uno scanner Siemens ECAT EXACT HR+. I soggetti sono stati tenuti a digiuno per 4 ore prima dell'iniezione di un bolo di [18F]FDG di $185(\pm 8)$ MBq. E' stata ottenuta alla fine una immagine dinamica della scansione dell'emissione per 60 minuti; il metabolismo cerebrale di glucosio (rCMRGlc) è stato misurato anche grazie alla valutazione della radioattività sul sangue, ottenuto attraverso un accesso arterioso. L'analisi delle immagini parametriche di [11C](R)PK11195 BP e rCMRGlc è stata effettuata con la cosiddetta "Region of Interest analysis" (ROI).

Valutazione del volume ippocampale

Le segmentazione automatica dell'ippocampo è stata effettuata utilizzando il software FreeSurfer5.1.0 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). I passaggi effettuati dal programma sono stati descritti in diversi lavori (17,18). In breve, la registrazione dello spazio nell'atlante di Talairach è stata seguita da un'iniziale assegnazione volumetrica e correzione per la

variazione di intensità dovuta al B1 biasfield. Successivamente, è stato effettuato un allineamento volumetrico non-lineare all'atlante di Talaraich seguito da "pre-processing" ed infine il volume è stato assegnato. Il volume ippocampale è stato calcolato moltiplicando il numero di voxel per il volume del singolo voxel. Una correzione non manuale è stata effettuata ad ogni passaggio svolto dal programma FreeSurfer.

Statistical Parametric Mapping (SPM)

L'analisi SPM per evidenziare eventuali differenze fra [11C](R)PK11195 BP e rCMRGlc nei pazienti (MA o PD) e controlli è stata condotta utilizzando il software SPM8 (Wellcome Department of Imaging Neuroscience, UCL, London,UK;<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>). Il confronto tra gruppi è stato effettuato a livello di voxel, con un valore soglia di significatività posto a $p=0.01$. Cluster di 50 voxels rispondenti a tali parametri sono stati confrontati fra i gruppi ed eventuali differenze sono state considerate significative se $p<0.05$.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il software IBM SPSS 22 in Windows 7 (SPSS, Chicago, Illinois, USA). Le variabili continue sono espresse come media \pm deviazione standard. La normalità è stata verificata utilizzando il test di Kolmogorov-Smirnov. L'analisi delle varianze (one-way ANOVA) seguita dalla correzione post-hoc di Bonferroni è stata utilizzata per confrontare i tre gruppi. La valutazione dei dati delle ROI è stata effettuata come precedentemente descritto (18). Le variabili categoriche sono state confrontate utilizzando il test chi quadro (χ^2). Poiché le proiezioni dei neuroni ippocampali giungono alla corteccia entorinale, la quale a sua volta proietta verso il resto della corteccia, abbiamo ipotizzato che la degenerazione neuronale dovuta all'attivazione microgliale seguisse le connessioni corticali dall'ippocampo. Per tale motivo, per valutare la relazione fra volume ippocampale e neuroinfiammazione nei soggetti MA e PD, le misurazioni del volume ippocampale sono state confrontate con le misurazioni di [11C](R)PK11195 BP e rCMRGlc di ippocampo, lobo temporale mediale e corteccia. A causa delle dimensioni limitate del campione, è stato utilizzato il test di correlazione di Spearman a due code; eventuali differenze sono state considerate statisticamente significative quando $p<0.05$.

RISULTATI

Caratteristiche demografiche dei pazienti

In questo studio sono stati analizzati 25 soggetti (8 controlli sani, 8 pazienti con MA e 9 pazienti affetti da PD). L'età media risultava di 65.9 anni (± 6.2) per i controlli sani, 66.2 anni (± 6.4) per i soggetti MA e 69.3 anni (± 4.1) per i soggetti PD, in assenza di differenze significative tra i gruppi ($p=0.253$). La media del punteggio al MMSE mostrava una differenza statisticamente significativa tra i tre gruppi ($p<0.001$); nei confronti appaiati non si evidenziava una differenza statisticamente significativa tra il gruppo MA ed il gruppo PD ($p=0.534$), mentre risultava significativa tra il gruppo MA ed i controlli ($p<0.001$) e tra il gruppo PD ed i controlli ($p<0.001$) (per le caratteristiche dettagliate fare riferimento alla Tabella n. 1). L'assessment neuropsicometrico rivelava un deficit globale nella memoria a breve e lungo termine, nell'attenzione, nella prassia costruttiva, nel linguaggio e nelle abilità di riconoscimento sia nel gruppo MA che nel gruppo PD; i soggetti con MA avevano punteggi significativamente inferiori nella valutazione della memoria a breve e lungo termine rispetto ai soggetti PD. (Tabella 1).

Volume dell'ippocampo, [11C](R)PK11195 BP e rCMRGlc nei gruppi AD e PDD

Il volume dell'ippocampo risultava pari a $8465.7 \pm 639.2 \text{ mm}^3$ nei controlli, $6205.9 \pm 1425.9 \text{ mm}^3$ nei soggetti MA e $7568.7 \pm 1095.4 \text{ mm}^3$ nei soggetti PD; risultava significativamente ridotto nel gruppo MA rispetto al gruppo dei controlli ($p=0.001$), mentre non si evidenziava una differenza significativa tra il gruppo PD ed i controlli ($p=0.324$) nei confronti appaiati.

La Tabella 2 mostra la captazione di [11C](R)PK11195 nel gruppo MA e nel PD a livello delle regioni di interesse (regions of interest, ROI), confrontati rispetto al gruppo di controllo. La captazione di [11C](R)PK11195 risultava significativamente incrementata in tutte le ROI corticali nei soggetti MA rispetto ai controlli. Analogamente, nelle ROI corticali dei soggetti PD i livelli di attivazione gliale risultavano significativamente incrementati, rispetto al gruppo di controllo.

Il livello di rCMRGlc in tutti i gruppi è mostrato nella Tabella 2. Nei soggetti PD si evidenziava una significativa riduzione nel metabolismo glucidico, paragonato con il

gruppo dei controlli, in tutte le regioni; i soggetti MA mostravano un ridotto rCMRGlc paragonato ai controlli in tutte le regioni cerebrali, eccetto che nella corteccia cingolata anteriore.

Correlazione nelle ROI tra uptake di [11C](R)PK11195, rCMRGlc e volume dell'ippocampo.

Abbiamo valutato la correlazione tra il volume dell'ippocampo ed i livelli di attivazione della microglia nell'ippocampo dei pazienti MA ed i pazienti PD. Gli intervalli di confidenza al 95% sono riportati tra parentesi quadre. È stata identificata una significativa correlazione inversa tra il volume dell'ippocampo e l'attivazione gliale nell'ippocampo stesso, con $\rho = -0.647$ $[-0.181, -0.893]$ ($p = 0.005$). Analizzando separatamente i gruppi MA e PD, non sono state evidenziate correlazioni significative tra volume dell'ippocampo e l'uptake di [11C](R)PK11195 nelle ROI corrispondenti all'ippocampo, al lobo medio-temporale ed alla corteccia a livello globale. Il volume dell'ippocampo non mostrava correlazione significativa con il rCMRGlc nell'ippocampo stesso e nel lobo medio-temporale dei soggetti MA e PD.

Correlazione in SPM tra uptake di [11C](R)PK11195, rCMRGlc e volume dell'ippocampo.

Poiché l'analisi delle ROI valuta regioni corticali di grandi dimensioni e predefinite, abbiamo condotto una valutazione "pixel by pixel" con l'analisi SPM, al fine di valutare la relazione tra il volume dell'ippocampo e più piccoli cambiamenti dell'attivazione microgliale e del metabolismo glucidico, sia nel gruppo MA che in quello PD.

La figura 1 mostra clusters di attivazione gliale, utilizzando la regressione multipla per l'uptake di [11C](R)PK11195 rispetto al volume dell'ippocampo nei gruppi MA (A) e PD (B), con una soglia di significatività del cluster di $p < 0.00005$, ed una soglia di estensione di 200 voxel; in questa analisi l'attivazione gliale risultava inversamente correlata al volume dell'ippocampo nei soggetti MA e PD. I dettagli delle regioni corticali con correlazione inversa tra uptake di [11C](R)PK11195 e volume dell'ippocampo in MA e PD sono mostrati nella Tabella 3.

Analogamente, la Figura 1 (C,D) mostra i cluster con riduzione significativa di rCMRGlc rispetto al volume dell'ippocampo nei soggetti MA (C) e PD (D), calcolato con l'analisi della regressione multipla ad una soglia di significatività dei cluster con $p < 0.000005$ ed un'estensione dei cluster di 200 voxel. In questo caso, è stata osservata una correlazione

diretta tra il metabolismo glucidico ed il volume dell'ippocampo nel gruppo di soggetti MA ed in quello PD. I dettagli delle regioni corticali con un rCMRGlc inversamente correlate con il volume dell'ippocampo nei gruppi MA e PD sono mostrati nella Tabella 4.

Correlazione tra stato cognitivo, uptake di [11C](R)PK11195, rCMRGlc e volume dell'ippocampo.

In accordo con la letteratura, in questo studio abbiamo evidenziato una correlazione significativa tra il punteggio al MMSE e l'uptake di [11C](R)PK11195 nelle ROI predefinite, in tutta la popolazione esaminata. In particolare, il punteggio del MMSE risultava negativamente correlato con l'uptake di [11C](R)PK11195 nell'ippocampo, con $\rho=-0.483$ $[-0.700, -0.086]$ ($p=0.029$), nel lobo medio-temporale, con $\rho=-0.585$ $[-0.801, -0.241]$ ($p=0.002$) ed in tutta la corteccia, con $\rho=-0.632$ $[-0.836, -0.311]$ ($p=0.001$).

Inoltre, abbiamo valutato la relazione tra stato cognitivo e volume dell'ippocampo, trovando una correlazione positiva significativa tra il punteggio al MMSE ed il volume dell'ippocampo in tutta la popolazione dello studio, con $\rho=0.505$ $[0.118, 0.786]$ ($p<0.01$). Il MMSE inoltre correlava con rCMRGlc nell'ippocampo, con $\rho=0.713$ $[0.457, 0.873]$ ($p<0.0001$) e nel lobo temporale mediale, con $\rho=0.678$ $[0.425, 0.834]$ ($p<0.0001$).

DISCUSSIONE

Nel presente progetto di Dottorato abbiamo dimostrato per la prima volta che i livelli di attivazione gliale a livello dei voxel nella intera corteccia cerebrale, nel lobo temporale mediale e nell'ippocampo, misurati mediante la PET con [11C](R)PK11195, sono inversamente correlati con il volume dell'ippocampo sia in pazienti con MA che in pazienti con PD. Tale studio supporta ulteriormente l'ipotesi che la attivazione della microglia identificata dalla PET con [11C](R)PK11195 sia associata a danno neuronale dimostrato dalla atrofia dell'ippocampo e dalla riduzione del metabolismo del glucosio. Tale ipotesi è in accordo con risultati di studi precedenti che hanno dimostrato che la neuroinfiammazione è un fattore chiave nelle patologie neurodegenerative (19,20). La corrispondenza spaziale tra l'attivazione della microglia sia localmente che a distanza rispetto alle aree di proiezione dell'ippocampo e l'atrofia dell'ippocampo stesso supporta ulteriormente l'ipotesi che la attivazione gliale cronica possa essere uno degli effettori del processo di neurodegenerazione; pertanto, la modulazione della neuroinfiammazione potrebbe avere importanti risvolti terapeutici in tali patologie. Nel presente studio abbiamo riscontrato aumentati livelli di captazione del [11C](R)PK11195 in quasi tutte le regioni cerebrali definite a priori sia nei soggetti con MA che in quelli con PD, rispetto ai controlli, confermando dati già pubblicati da altri gruppi di ricerca.

Le evidenze presenti in letteratura indicano che la neuroinfiammazione sia uno dei fattori maggiormente implicati nella fisiopatologia delle malattie neurodegenerative, e può essere considerato come un fattore indipendente dal primario processo patologico sottostante. Nella MA, le cellule della glia sono attivate dalla deposizione di beta-amiloide, generando una risposta proinfiammatoria che porta infine a morte neuronale. I neuroni danneggiati, così come i grovigli neurofibrillari, possono a loro volta attivare la microglia, inducendo un circolo vizioso di danno neuronale, noto come microgliosi reattiva (21). Nella PD, dati provenienti dagli studi neuropatologici hanno dimostrato che le cellule della microglia sono associate con i corpi di Lewy di alfa-sinucleina, e che il *misfolding* della alfa-sinucleina stessa può indurre attivazione della microglia (22). Nella PD, la diffusione dei corpi di Lewy segue un pattern neuropatologico ben definito, descritto da Braak e colleghi, che inizia a livello del nucleo motore dorsale del vago e dal nucleo olfattorio, per poi estendersi alla substantia nigra, ai nuclei della base ed infine alle aree associative sensoriali e premotorie.

della corteccia. Pertanto, si potrebbe ipotizzare che la attivazione della microglia indotta dai corpi di Lewy possa seguire la stessa distribuzione spazio-temporale. Inoltre, è stato anche dimostrato che la attivazione della microglia possa portare a disfunzione sinaptica e perdita delle proiezioni assonali dopaminergiche con degenerazione retrograda. In tale studio abbiamo dimostrato che l'attivazione della microglia *in situ* e nelle aree di proiezione corticale dell'ippocampo può causare danno neuronale ed atrofia dell'ippocampo, dato che non era stato precedentemente dimostrato in letteratura.

Bisogna tuttavia ricordare che le cellule microgliali presentano diversi fenotipi, in base al tipo di stimolazione proinfiammatoria ricevuta, sia in via paracrina che autocrina: la stimolazione da parte delle citochine è infatti essenziali per la polarizzazione verso il fenotipo M1, o classicamente attivato, o quello M2, o alternativo (23). Nella MA è stato dimostrato che la disfunzione della microglia può contribuire all'accumulo di beta-amiloide e che con la progressione della malattia, vi sia un cambiamento dal fenotipo M2 a quello M1, in quanto pare che la microglia diventi meno reponsiva alla stimolazione M2 col passare del tempo (24,25). Nel nostro studio non è possibile distinguere se la attivazione gliale identificata dalla PET con [11C](R)PK11195 possa essere ascritta ad uno dei due fenotipi in particolare.

Nel presente studio abbiamo dimostrato che il volume dell'ippocampo in soggetti con MA e PD è direttamente correlato con la riduzione del metabolismo del glucosio all'analisi effettuata a livello dei voxel. Tale dato è in accordo con quanto precedentemente riportato; è infatti noto che pazienti con MA e PD presentano estese aree di atrofia cerebrale ed ipometabolismo rispetto a controlli sani della stessa età. Vander Borgh et al hanno confrontato pazienti con MA e PD con un grado di demenza simile, riscontrando simili alterazioni del metabolismo sia globalmente che regionalmente; tuttavia i pazienti con PD presentavano una maggiore riduzione della captazione di glucosio a livello della corteccia occipitale ed una funzione metabolica relativamente conservata a livello del lobo temporale mediale rispetto ai pazienti con MA. Studi con FDG-PET nella MA indicano che il deficit di metabolismo del glucosio inizia a livello dell'ippocampo e della corteccia del cingolo posteriore, per poi coinvolgere la corteccia temporo-parietale (26).

Dati recenti hanno dimostrato che in pazienti con MP e deficit cognitivo di grado lieve, l'ipometabolismo eccede l'atrofia a livello del giro angolare e della corteccia occipitale, orbitale e frontale anteriore (27). Nei pazienti con PD, le aree di ipometabolismo osservate nei soggetti con MP e lieve deficit cognitivo sono sostituite da aree di atrofia, circondate da

ampie zone di ipometabolismo; le aree in cui l'atrofia eccede l'ipometabolismo sono state riscontrate a livello della corteccia precentrale e delle aree motorie supplementari sia in pazienti con deficit cognitivo lieve che in quelli con PD, e nell'ippocampo e nel lobo temporale in pazienti con PD.

Tali dati sono in accordo con quelli presentati nel nostro lavoro. Nella nostra casistica abbiamo riscontrato che i pazienti con MA mostravano una significativa atrofia dell'ippocampo rispetto ai controlli, mentre i pazienti con PD non presentavano un volume dell'ippocampo significativamente diverso dai controlli. I dati presenti in letteratura non sono univoci a riguardo. Alcuni autori hanno riportato la presenza di atrofia dell'ippocampo anche in fase precoce di malattia, mentre altri non hanno riscontrato differenze rispetto a controlli della stessa età (11-13). Nella nostra popolazione, l'atrofia dell'ippocampo nei pazienti con MA sembra correlare con la neuroinfiammazione nell'ippocampo stesso e nelle aree ad esso connesse. E' noto che la corteccia entorinale a livello del lobo temporale mediale è collegata sia mediante vie neuronali afferenti che efferenti all'ippocampo; inoltre la corteccia entorinale è in connessione con numerose aree corticali e sottocorticali: l'amigdala, il bulbo olfattorio, la corteccia del cingolo, la corteccia temporale e quella orbitale (nonché altre regioni frontali e parietali). Pertanto, è possibile ritenere che il processo neuroinfiammatorio in aree collegate possa portare a neurodegenerazione ed atrofia (Figura 2).

Inoltre, i nostri dati indicano che il volume dell'ippocampo è significativamente correlato con la riduzione del rCMRGlc e con l'aumento della attivazione gliale in regioni cerebrali più vaste nei soggetti con MA rispetto a quelli con PD, suggerendo che, per un simile grado di deficit cognitivo, il processo fisiopatologico sottostante è spazialmente più esteso nella MA che nella PD, ed allo stesso modo l'atrofia dell'ippocampo si è manifestata prima nella MA che nella PD.

La valutazione neuropsicometrica della popolazione dello studio indica che i soggetti con MA hanno ottenuto punteggi significativamente inferiori rispetto ai PD nei test di memoria a breve e lungo termine. Tale dato è parzialmente in accordo con quanto riportato precedentemente in altri studi, che hanno dimostrato che, per valori simili di MMSE, soggetti con MA e PD presentano differenze significative nei punteggi ai test che esplorano la memoria, l'attenzione e le funzioni esecutive, anche in fase precoce di malattia (28,29). Tale differenza può essere dovuta al diverso substrato neuropatologico, che nei pazienti con MA colpisce principalmente la corteccia temporale mediale e le aree associative neocorticali,

mentre nella MP la neurodegenerazione inizia a livello del tronco encefalico per poi estendersi a livello delle regioni corticali. Nel presente studio abbiamo dimostrato che vi è una correlazione inversa tra il profilo cognitivo valutato con il MMSE e il [11C](R)PK11195 BP, ed una correlazione positiva tra il punteggio del MMSE ed il volume dell'ippocampo e il rCMRGlc, confermando ulteriormente la valenza della attivazione della microglia negli stadi avanzati della patologia (30,31).

Tuttavia, bisogna sottolineare che i risultati di tale studio sono limitati dalla numerosità dei soggetti arruolati in ciascuno dei gruppi, benché questo sia comunque uno studio pilota volto a ricercare nuove evidenze della possibile relazione tra neuroinfiammazione e neurodegenerazione. La PET con [11C](R)PK11195, anche se impiegata per lungo tempo come una metodica selettiva per la valutazione della attivazione della microglia, mediante il legame del tracciante alla proteina TSPO, presenta in vivo una captazione che è di 2-3 ordini di grandezza inferiore rispetto ai cosiddetti traccianti di seconda generazione, come il [11C]PBR28. Studi futuri con questi ultimi traccianti potranno estendere i risultati riportati anche ad altre patologie neurodegenerative; tuttavia, i traccianti di seconda generazione presentano lo svantaggio di essere influenzati dai polimorfismi del gene per il TSPO. Inoltre, nonostante il [11C](R)PK11195 sia considerato un marcatore specifico per la microglia, numerosi studi hanno dimostrato che esso si lega anche agli astrociti reattivi (32-34).

In conclusione, tale progetto ha dimostrato che la attivazione della glia nell'ippocampo, valutata mediante PET con [11C](R)PK11195, è inversamente correlata al volume dell'ippocampo nelle patologie neurodegenerative con demenza. Tali risultati rappresentano una ulteriore evidenza a supporto del ruolo centrale della microglia nelle patologie neurodegenerative come la MA e la PD, e suggeriscono che l'attivazione microgliale possa essere un target terapeutico nel modulare la neuroinfiammazione e, di conseguenza, il processo di neurodegenerazione.

BIBLIOGRAFIA

1. Bloom GS. Amyloid- β and tau: the trigger and bullet in Alzheimer disease pathogenesis. *JAMA Neurol.* 2014;71:505-8.
2. Irwin DJ, Lee VM, Trojanowski JQ. Parkinson's disease dementia: convergence of α -synuclein, tau and amyloid- β pathologies. *Nat Rev Neurosci.* 2013;14:626-36.
3. Morales I, Guzman-Martinez L, Cerda-Troncoso C et al. Neuroinflammation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. A rational framework for the search of novel therapeutic approaches. *Frontiers in cellular neuroscience.* 2014;8:112.
4. Kreisl W.C., Fujita, M., Fujimura, Y., et al. Comparison of [(11)C]-(R)-PK 11195 and [(11)C]PBR28, two radioligands for translocator protein (18 kDa) in human and monkey: Implications for positron emission tomographic imaging of this inflammation biomarker. *Neuroimage* 2010;49, 2924-32.
5. Edison P, Archer HA, Gerhard A, et al. Microglia, amyloid, and cognition in Alzheimer's disease: An [11C](R)PK11195-PET and [11C]PIB-PET study. *Neurobiology of disease* 2008;32:412-419.
6. Edison P, Rowe CC, Rinne JO, et al. Amyloid load in Parkinson's disease dementia and Lewy body dementia measured with [11C]PIB positron emission tomography. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 2008;79:1331-1338.
7. Fan Z, Aman Y, Ahmed I, et al. Influence of microglial activation on neuronal function in Alzheimer's and Parkinson's disease dementia. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association* 2014.
8. Leung KK, Bartlett JW, Barnes J, et al. Cerebral atrophy in mild cognitive impairment and Alzheimer disease: rates and acceleration. *Neurology* 2013;80:648-654.
9. Melzer TR, Watts R, MacAskill MR, et al. Grey matter atrophy in cognitively impaired Parkinson's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 2012;83:188-194
10. Beyer MK, Janvin CC, Larsen JP, Aarsland D. A magnetic resonance imaging study of patients with Parkinson's disease with mild cognitive impairment and

dementia using voxel-based morphometry. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 2007;78:254-259.

11. Camicioli R, Moore MM, Kinney A, Corbridge E, Glassberg K, Kaye JA. Parkinson's disease is associated with hippocampal atrophy. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2003;18:784-790.
12. Laakso MP, Partanen K, Riekkinen P, et al. Hippocampal volumes in Alzheimer's disease, Parkinson's disease with and without dementia, and in vascular dementia: An MRI study. *Neurology* 1996;46:678-681.
13. Apostolova LG, Beyer M, Green AE, et al. Hippocampal, caudate, and ventricular changes in Parkinson's disease with and without dementia. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2010;25:687-695.
14. McKhann G, Drachman D, Folstein M et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. 1984;34:939-44.
15. Emre M1, Aarsland D, Brown R et al. Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2007;22:1689-707;
16. Turkheimer FE, Edison P, Pavese N, et al. Reference and target region modeling of [11C]-(R)-PK11195 brain studies. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 2007;48:158-167.
17. Fischl B, van der Kouwe A, Destrieux C, et al. Automatically parcellating the human cerebral cortex. *Cereb Cortex* 2004;14:11-22.
18. Fischl B, Salat DH, Busa E, et al. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* 2002;33:341-355.
19. Edison P, Ahmed I, Fan Z, et al. Microglia, amyloid, and glucose metabolism in Parkinson's disease with and without dementia. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 2013;38:938-949.
20. Kreisl WC, Lyoo CH, McGwier M, et al. In vivo radioligand binding to translocator protein correlates with severity of Alzheimer's disease. *Brain : a journal of neurology* 2013;136:2228-2238.
21. Doens D, Fernandez PL. Microglia receptors and their implications in the response to amyloid beta for Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of neuroinflammation* 2014;11:48.

22. Imamura K, Hishikawa N, Sawada M, Nagatsu T, Yoshida M, Hashizume Y. Distribution of major histocompatibility complex class II-positive microglia and cytokine profile of Parkinson's disease brains. *Acta neuropathologica* 2003;106:518-526.
23. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *Journal of immunology* 2000;164:6166-6173.
24. Koenigsknecht-Talboo J, Landreth GE. Microglial phagocytosis induced by fibrillar beta-amyloid and IgGs are differentially regulated by proinflammatory cytokines. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2005;25:8240-8249.
25. Cherry JD, Olschowka JA, O'Banion MK. Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed. *Journal of neuroinflammation* 2014;11:98.
26. Vander Borgh T, Minoshima S, Giordani B, et al. Cerebral metabolic differences in Parkinson's and Alzheimer's diseases matched for dementia severity. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 1997;38:797-802.
27. Gonzalez-Redondo R, Garcia-Garcia D, Clavero P, et al. Grey matter hypometabolism and atrophy in Parkinson's disease with cognitive impairment: a two-step process. *Brain : a journal of neurology* 2014;137:2356-2367.
28. Park KW, Kim HS, Cheon SM, Cha JK, Kim SH, Kim JW. Dementia with Lewy Bodies versus Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease Dementia: A Comparison of Cognitive Profiles. *Journal of clinical neurology* 2011;7:19-24.
29. Hildebrandt H, Fink F, Kastrup A, Haupts M, Eling P. Cognitive profiles of patients with mild cognitive impairment or dementia in Alzheimer's or Parkinson's disease. *Dementia and geriatric cognitive disorders extra* 2013;3:102-112.
30. Laakso MP, Soininen H, Partanen K, et al. Volumes of hippocampus, amygdala and frontal lobes in the MRI-based diagnosis of early Alzheimer's disease: correlation with memory functions. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 1995;9:73-86.
31. Smith CD, Malcein M, Meurer K, Schmitt FA, Markesbery WR, Pettigrew LC. MRI temporal lobe volume measures and neuropsychologic function in Alzheimer's disease. *Journal of neuroimaging : official journal of the American Society of Neuroimaging* 1999;9:2-9.

32. Lavisse S, Guillermier M, Herard AS, et al. Reactive astrocytes overexpress TSPO and are detected by TSPO positron emission tomography imaging. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2012;32:10809-10818.
33. Ji B, Maeda J, Sawada M, et al. Imaging of peripheral benzodiazepine receptor expression as biomarkers of detrimental versus beneficial glial responses in mouse models of Alzheimer's and other CNS pathologies. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2008;28:12255-12267.
34. Maeda J, Higuchi M, Inaji M, et al. Phase-dependent roles of reactive microglia and astrocytes in nervous system injury as delineated by imaging of peripheral benzodiazepine receptor. *Brain research* 2007;1157:100-111.

TABELLE

Tabella 1. Caratteristiche demografiche e test neuropsicometrici nei controlli, nei soggetti MA e nei soggetti PD.

	Controlli	MA	PD
Numero totale	8	8	9
Eta' media (SD)	65.9 (6.2)	66.2 (6.4)	69.3 (4.1)
Range di eta'	56-77	52-74	64-79
Sesso (maschile)	6/8	5/8	5/9
MMSE (SD)	29.4 (0.9)	19 (5.3) #	21.3 (2.8) #
Range di MMSE	28-30	11-26	18-25
Memoria verbale immediata (/10)	8.2 (0.7)	2.3 (1.0) #*	5.3 (0.9) #
Memoria verbale differita (/10)	7.9 (1.0)	0.6 (1.5) #*	6.0 (1.1)
Riconoscimento di parole	19.5 (0.8)	16.0 (1.7) #	16.7 (2.4) #
Forward Digit Span (/14)	13.4 (0.9)	5.5 (2.3) #	3.9 (2.2) #
Test dell'orologio (/5)	4.9 (0.4)	1.3 (1.8) #	2.4 (1.5) #
Boston Naming Test (/30)	28.2 (1.0)	15.0 (4.2) #	21.0 (1.8) #
FAS	46.8 (2.1)	21.0 (12.8) #	20.1 (5.5) #

I dati vengono presentati come media (SD). Il test ANOVA One way ed il χ^2 con valori di $p < 0.05$ sono considerati significativi con # $p < 0.05$ vs i controlli in test appaiati; * $p < 0.05$ MA vs PD nei test appaiati.

Tabella 2. Attivazione gliale e metabolismo glucidico per singola regione, in controlli, MA e PD

	Controlli	MA	PDD
ATTIVAZIONE GLIALE PER REGIONI			
Ippocampo	0.34 (0.09)	0.47 (0.09) *	0.42 (0.17)
Corteccia cingolata anteriore	0.34 (0.09)	0.52 (0.17) *	0.49 (0.21) *
Corteccia cingolata posteriore	0.40 (0.09)	0.60 (0.18) *	0.57 (0.22) *
Talamo	0.39 (0.13)	0.51 (0.10) *	0.54 (0.23)
Striato	0.26 (0.06)	0.44 (0.12) *	0.45 (0.16) *
Lobo frontale	0.30 (0.10)	0.50 (0.10) *	0.46 (0.18) *
Lobo temporale	0.33 (0.07)	0.48 (0.11) *	0.43 (0.13) *
Lobo parietale	0.30 (0.10)	0.46 (0.11) *	0.43 (0.16) *
Lobo occipitale	0.36 (0.08)	0.52 (0.10) *	0.50 (0.15) *
Lobo temporale mediale	0.32 (0.08)	0.46 (0.11) *	0.45 (0.14) *
BP corticale globale	0.34 (0.08)	0.51 (0.12) *	0.47 (0.16) *
METABOLISMO GLUCIDICO PER REGIONE			
Ippocampo	0.25 (0.02)	0.19 (0.02) *	0.21 (0.03) *
Corteccia cingolata anteriore	0.30 (0.03)	0.28 (0.05)	0.26 (0.04) *
Corteccia cingolata posteriore	0.37 (0.04)	0.28 (0.04) *	0.29 (0.03) *
Talamo	0.29 (0.05)	0.24 (0.04) *	0.23 (0.04) *

Striato	0.36 (0.04)	0.31 (0.05) *	0.29 (0.05) *
Lobo frontale	0.34 (0.03)	0.29 (0.05) *	0.25 (0.04) *
Lobo temporale	0.29 (0.03)	0.23 (0.04) *	0.21 (0.03) *
Lobo parietale	0.34 (0.03)	0.26 (0.04) *	0.23 (0.04) *
Lobo occipitale	0.33 (0.02)	0.28 (0.06) *	0.22 (0.05) *
Lobo mediotemporale	0.23 (0.02)	0.18 (0.02) *	0.21 (0.03) *

I dati sono mostrati come media (SD). *P<0.05 vs controlli.

Tabella 3. Clusters di correlazione negativa *voxel-per-voxel* tra attivazione microgliale e volume dell'ippocampo nel gruppo MA e nel gruppo PD, utilizzando la *statistical parametric mapping*

Correlazione negativa tra PK11195 BP e volume dell'ippocampo nei soggetti MA						
Regione	Coordinate			Z-Score	Valore di p corretto	Dimensione del cluster
	x	y	z			
Lobo temporal posteriore, sin	-51	-66	-1	5.18	<0.00001	426848
Giro medio frontale, sin	-33	54	-5	5.16	<0.00001	426848
Giro post centrale, dx	61	-15	29	5.12	<0.00001	426848
Giro temporale superiore, sin	-63	-28	0	5.07	<0.00001	426848
Lobo occipitale laterale, sin	-28	-79	-19	5.06	<0.00001	426848
Lobo parietale inferolaterale, sin	-53	-63	32	5.00	<0.00001	426848
Lobo temporale posteriore, dx	63	-46	13	5.00	<0.00001	426848
Pallido, dx	15	0	-5	5.00	<0.00001	426848
Giri paraippocampale ed ambientale, dx	21	-1	-35	4.95	1.96268E-09	1487
Ippocampo, dx	22	-6	-27	4.39	1.96268E-09	1487
Giro temporale medio ed inferiore, dx	47	-4	-43	4.08	0.030565864	204
Lobo temporal anteriore, dx	42	2	-46	4.05	0.030565864	204
Correlazione negativa tra PK11195 BP e volume dell'ippocampo nel gruppo PD						
Regione	Coordinate			Z- Score	Valore di p corretto	Dimensione del cluster
	x	y	z			
Talamo, sin	-11	-21	0	4.88	2.7684E-08	2108
Tronco encefalico	-10	-28	-8	4.32	2.7684E-08	2108
Ponte	1	-25	-42	4.82	<0.00001	13120
Talamo, dx	15	-25	-6	4.64	<0.00001	13120

Amigdala, sin	-29	-2	-22	4.71	<0.00001	14617
Insula, sin	-34	2	-11	4.61	<0.00001	14617
Giro medio frontale, sin	-33	36	11	4.56	<0.00001	14617
Giro frontale inferiore, sin	-35	32	6	4.49	<0.00001	14617
Putamen, sin	-28	-7	0	4.39	<0.00001	14617
Lobo temporale anteriore, sin	-26	-1	-40	4.34	<0.00001	14617
Giro fusiforme, sin	-35	-5	-35	4.32	<0.00001	14617
Giri paraippocampale ed ambientale, sin	-26	-2	-33	4.27	<0.00001	14617
Giro orbitale, dx	37	39	-12	4.68	<0.00001	6571
Giro orbitale inferiore, dx	44	32	14	4.68	<0.00001	6571
Giro orbitale posteriore, dx	34	34	-13	4.56	<0.00001	6571
Giro frontale medio, dx	27	46	4	4.33	<0.00001	6571
Insula, dx	31	27	-2	4.15	<0.00001	6571
Lobo temporale posteriore, dx	53	-36	3	4.66	<0.00001	18550
Lobo occipitale laterale, dx	45	-77	1	4.50	<0.00001	18550
Giro temporale superiore, dx	56	-29	0	4.44	<0.00001	18550
Giro temporale mediano ed inferiore, dx	48	-15	-23	4.42	<0.00001	18550
Giro linguale, sin	-9	-77	-11	4.61	0.002314216	557
Lobo occipitale laterale, sin	-40	-79	-9	4.49	1.12343E-12	3969
Lobo temporale posteriore, sin	-50	-66	-10	4.11	1.12343E-12	3969
Giro orbitale anteriore, sin	-21	51	-9	4.47	0.017214791	359
Giro temporale medio ed inferiore, sin	-50	-31	-12	4.36	<0.00001	6448
Lobo parietale inferolaterale, sin	-52	-50	18	4.19	<0.00001	6448
Putamen, dx	21	9	-5	4.43	1.04388E-07	1894
Insula, dx	33	2	-8	4.18	1.04388E-07	1894
Giro postcentrale, dx	56	-14	17	4.39	4.996E-14	4616

Giro precentrale, dx	48	-10	33	4.35	4.996E-14	4616
Giro parietale inferolaterale, dx	48	-23	38	4.21	4.996E-14	4616
Giro linguale, dx	12	-71	-10	4.37	2.92312E-05	1076
Giro precentrale, sin	-30	-24	54	4.33	0.003083954	527
Giro postcentrale, sin	-28	-34	57	4.16	0.003083954	527
Lobo temporale anteriore, sin	-49	5	-26	4.08	0.006956356	445
Giro temporale superiore, sin	-45	11	-25	4.00	0.006956356	445
Giro frontale superiore, sin	-7	47	17	4.17	0.007706112	435

Tabella 4. Clusters di correlazione negativa *voxel-per-voxel* tra metabolismo glucidico cerebrale e volume dell'ippocampo nei soggetti MA e PD utilizzando la *statistical parametric mapping*

Correlazione positive tra rCMRGlc e volume dell'ippocampo nei soggetti MA						
Regione	Coordinate			Z- Score	Valore di p corretto	Dimensione dei clusters
	x	y	z			
Giro temporale superiore, sin	-47	-7	-12	6.36	<0.00001	377553
Nucleo accumbens, sin	-6	5	-11	6.13	<0.00001	
Talamo, sin	-20	-35	-2	6.10	<0.00001	
Giro parietale superiore, sin	-4	-67	18	6.04	<0.00001	
Giro linguale, dx	11	-50	-2	6.01	<0.00001	
Lobo temporale posteriore, sin	-26	-35	-20	5.92	<0.00001	
Area sub callosa, sin	-2	10	-10	5.92	<0.00001	
Insula, sin	-39	-10	-5	5.91	<0.00001	
Lobo temporale posteriore, dx	15	-35	-3	5.88	<0.00001	
Giro precentrale, dx	17	-18	71	5.87	<0.00001	
Lobo occipitale laterale, sin	-22	-84	40	5.81	<0.00001	
Lobo occipitale laterale, dx	19	-89	-14	5.80	<0.00001	
Lobo temporale anteriore, sin	-32	-1	-32	5.78	<0.00001	
Giro temporale superiore, sin	-43	14	-28	5.76	<0.00001	
Giro frontale superiore, sin	-14	45	45	4.89	1.56541E-14	1300
Amigdala, dx	26	-5	-15	4.84	3.30955E-05	251
Giro frontale inferiore, dx	49	28	9	4.74	1.15463E-13	1181
Talamo, dx	16	-14	10	4.57	4.04715E-05	244
Correlazione positiva tra rCMRGlc e volume dell'ippocampo nei soggetti PD						
Regione	Coordinate			Z- Score	Valore di p corretto	Dimensioni dei cluster

	x	y	z			
Talamo, sin	-10	-18	-4	6.56	<0.00001	79141
Giro cingolato, sin	-4	-44	28	6.45	<0.00001	
Giro precentrale, dx	20	-14	64	6.45	<0.00001	
Giro temporale superiore, dx	52	-6	-14	6.38	<0.00001	
Talamo, dx	14	-16	2	6.33	<0.00001	
Giro postcentrale, dx	54	-12	36	6.32	<0.00001	
Giro orbitale laterale, dx	-44	40	-12	6.31	<0.00001	
Giro orbitale anteriore, dx	18	50	-18	6.30	<0.00001	
Giro temporale medio ed inferiore, dx	56	-8	-18	6.28	<0.00001	
Ippocampo, dx	22	-12	-22	6.28	<0.00001	
Lobo temporale posteriore, sin	-32	-36	-20	6.26	<0.00001	
Giro cingolato, sin	-2	-24	44	6.22	<0.00001	

Tabella 5. Clusters di correlazione *voxel-per-voxel* tra metabolismo glucidico nell'ippocampo e attivazione microgliale nei soggetti MA e PD utilizzando la *statistical parametric mapping*

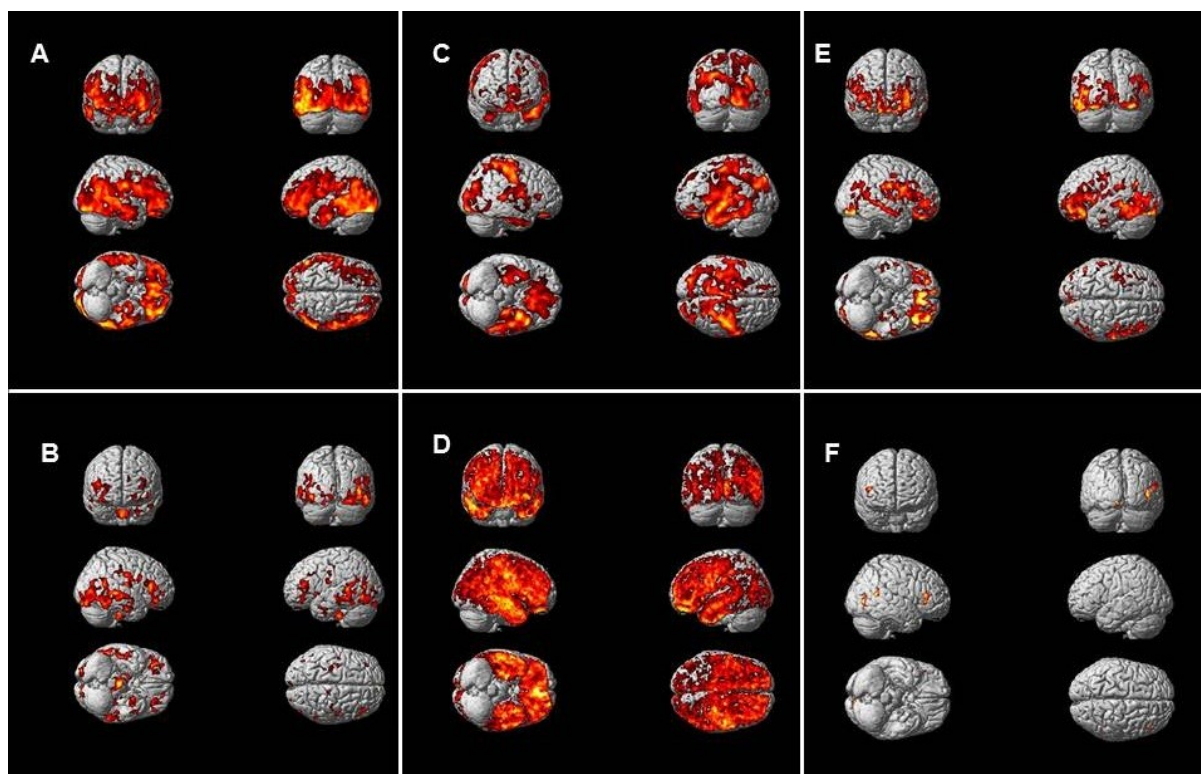
Correlazione tra rCMRGlc e PK11195 BP nell'ippocampo in soggetti MA						
Regione	Coordinate			Z- Score	Valore di p corretto	Dimensione dei cluster
	x	y	z			
Giro orbitale laterale, sin	-39	33	-13	5.34	<0.00001	46847
Giro frontale medio, sin	-32	54	-6	5.34		
Amigdala, sin	-29	-5	-19	5.32		
Giro orbitale mediale, sin	-15	29	-27	5.27		
Giro orbitale posteriore, sin	-26	8	-16	5.18		
Giro frontale superiore, sin	-4	40	-16	5.17		
Putamen, sin	-29	3	1	5.17		
Talamo, sin	-22	-31	1	5.14		
Corteccia frontale pre-subcallosa, sin	-11	41	-5	5.14		
Giro retto, dx	9	39	-22	5.13		
Giro retto, sin	-3	36	-17	5.11		
Giro frontale superiore, dx	6	32	-14	5.09		
Lobo temporale posteriore, sin	-60	-43	-12	5.30	<0.00001	19954
Lobo occipitale laterale, sin	-32	-81	-20	5.15		
Giro orbitale posteriore, dx	31	35	-21	5.26	<0.00001	19022
Giro postcentrale, dx	60	-15	30	5.18		
Giro precentrale, dx	61	3	11	5.07		
Giro frontale inferiore, dx	46	12	27	5.01		
Giro orbitale laterale, dx	45	27	-15	5.01		
Giro frontale mediano, dx	45	16	34	5.00		
Giro orbitale anteriore, dx	30	50	-8	4.92		

Lobo occipitale laterale, dx	33	-76	-17	5.25	<0.00001	19795
Giro temporale mediano ed inferiore, dx	50	-25	-5	5.24		
Lobo temporale posteriore, dx	60	-53	13	5.05		
Cuneo, dx	-1	-81	14	5.04		
Lobo occipitale laterale, sin	-21	-79	26	5.02		
Giro linguale, dx	18	-80	-15	4.99		
Giro temporale superiore, dx	56	6	-11	4.89		
Pallido, dx	14	-2	-7	5.08	5.75183E-09	345
Putamen, dx	17	5	-8	4.70		
Talamo, dx	19	-25	4	5.08	<0.00001	1382
Lobo parietale inferolaterale, sin	-62	-31	28	5.04	<0.00001	1127
Giro del cingolo, dx	4	-36	39	4.94	<0.00001	2005
Giro del cingolo, sin	-7	-40	41	4.78		
Giro parietale superiore, dx	14	-57	17	4.65		
Giro precentrale, sin	-39	-10	47	4.90	<0.00001	3044
Giro postcentrale, dx	-62	-8	11	4.86	1.14353E-14	725
Giro temporale mediano ed inferiore, sin	-58	-1	-31	4.77	9.21485E-15	732
Lobo temporale anteriore, sin	-61	4	-27	4.59		
Insula, dx	41	-5	1	4.63	1.84439E-08	316
Correlazione tra rCMRGlc nell'ippocampo e PK11195 BP nei soggetti PD						
Regione	Coordinate			Z- Score	Valore di p corretto	Dimensione dei cluster
	x	y	z			
Talamo, dx	-11	-20	1	5.049767	2.25019E-06	371
Giro linguale, dx	-9	-77	-10	4.957309	0.000228898	201
Giro frontale inferiore, dx	49	29	13	4.749284	1.35701E-07	490

Lobo temporale posteriore, dx	55	-53	15	4.728998	5.02938E-06	339
Lobo parietale inferolaterale, dx	59	-50	22	4.562938		
Lobo occipitale laterale, dx	45	-75	3	4.701746	7.92886E-08	514

FIGURE

Figura 1. Correlazione a livello dei voxel tra [11C](R)PK11195 BP e volume dell'ippocampo, tra rCMRGlc e volume dell'ippocampo e tra [11C](R)PK11195 BP e rCMRGlc nell'ippocampo nei soggetti AD e PDD.



La figura 1 rappresenta la relazione *voxel-wise* tra i livelli di attivazione microgliale ed il volume dell'ippocampo mediante una “color-coded statistical parametric map” sovrapposta in un *template* MRI normalizzato, in MA (A) e in PD (B); la tabella 3 mostra in dettaglio i corrispettivi e significativi clusters. La relazione *voxel-wise* tra il metabolismo glucidico ed il volume dell'ippocampo è rappresentata mediante una “color-coded statistical parametric maps” sovrapposta ad un *template* MRI normalizzato in soggetti MA (C) e PD (D); la tabella 4 mostra in dettaglio i corrispettivi e significativi clusters. La relazione *voxel-wise* tra il metabolismo glucidico nell'ippocampo ed i livelli di attivazione microgliale è rappresentata mediante una “color-coded statistical parametric maps” sovrapposta ad un *template* MRI normalizzato in soggetti MA (E) e PD (F); la tabella 5 mostra in dettaglio i corrispettivi e significativi clusters.

Figura 2. Ruolo potenziale di triggers neuroinfiammatori locali o distanti nella degenerazione dell'ippocampo

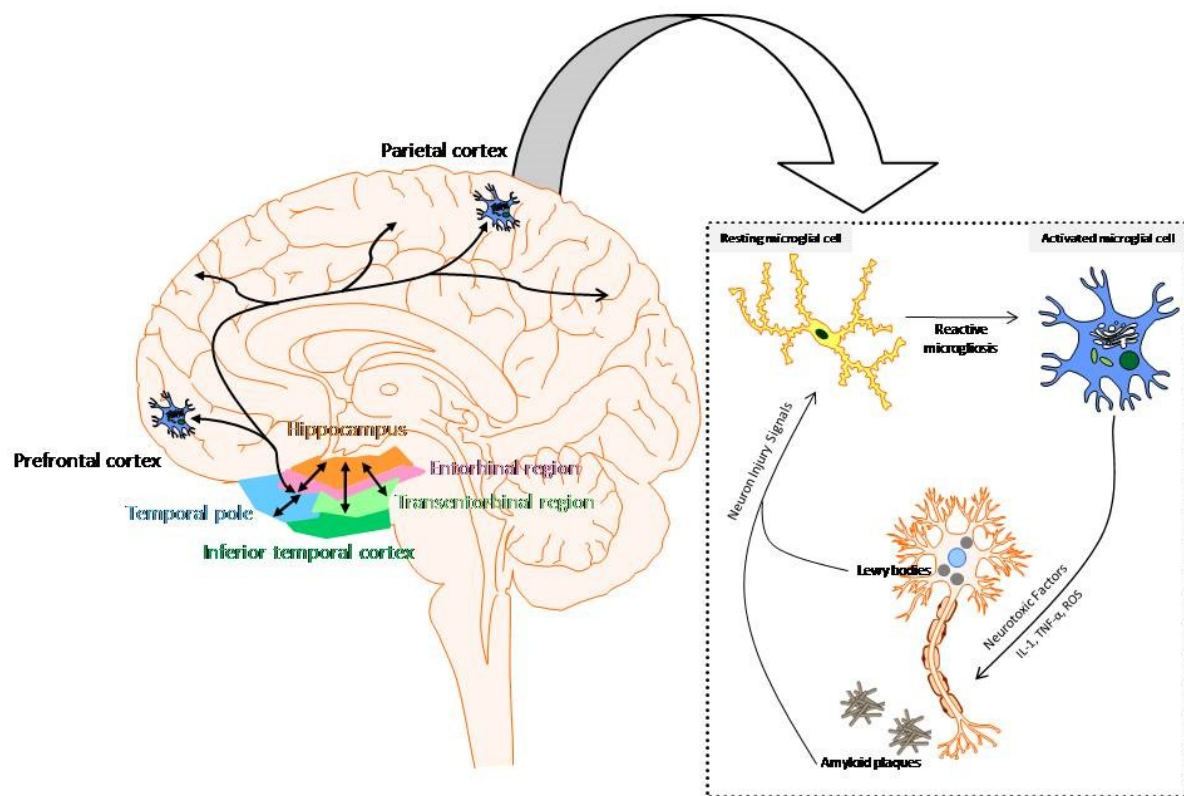


Figura 2 sin: rappresenta schematicamente le connessioni dell'ippocampo con la corteccia entorinale e le regioni corticali. Sulla destra, questa figura mostra come stimoli infiammatori diretti (placche di amiloide, corpi di Lewy) possono generare un circolo vizioso di fattori citotossici e stimolanti che determinano infiammazione cronica e progressiva neurodegenerazione nel tempo.